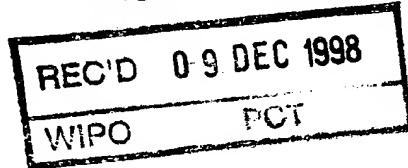




09/529795



**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Bescheinigung

Die Knoll Aktiengesellschaft in Ludwigshafen/Deutschland hat
eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Verwendung von TNF-Antagonisten als Arzneimittel
zur Behandlung von septischen Erkrankungen"

am 23. Oktober 1997 beim Deutschen Patentamt eingereicht.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patentamt vorläufig die Symbole A 61 K und G 01 N der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 7. Juli 1998

Der Präsident des Deutschen Patentamts
Im Auftrag

Schulenburg

Aktenzeichen: 197 46 868.3

Patentansprüche

1. Verwendung von TNF-Antagonisten zur Herstellung von Arznei-
5 mitteln zur Behandlung von solchen septischen Erkrankungen,
die durch einen ansteigenden Verlauf des Interleukin-6 Serum-
spiegels in einem Meßintervall von mindestens dreißig Minuten
gekennzeichnet sind.
- 10 2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der
Interleukin-6 Serumspiegel im Meßintervall 500 pg/ml und dar-
über beträgt.
3. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das
15 Meßintervall 4 - 10 Stunden beträgt.
4. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als
TNF-Antagonist ein F(ab')₂-Fragment eines monoklonalen anti-
TNF-Antikörpers verwendet wird.
20
5. Handelspackung enthaltend einen TNF-Antagonisten zusammen mit
Instruktionen für die Verwendung dieses TNF-Antagonisten bei
der Behandlung von septischen Erkrankungen, die durch einen
ansteigenden Verlauf des IL-6 Serumspiegels in einem Meßin-
25 tervall von mindestens dreißig Minuten gekennzeichnet sind.
6. Handelspackung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß
als TNF-Antagonist ein monoklonaler anti-TNF-Antikörper
verwendet wird.
30
7. Verfahren zur Ermittlung, ob ein an Sepsis erkrankter Patient
mit TNF-Antagonisten behandelt werden soll, das folgende
Schritte enthält:
35 (a) Bestimmung des Interleukin-6 Serumspiegels des Patienten
zu einem ersten Zeitpunkt t_1

40

45



2

(b) Bestimmung des Interleukin-6 Serumspiegels zu einem zweiten Zeitpunkt t_2 , der mindestens 30 Minuten nach dem ersten Zeitpunkt t_1 liegt und Bestimmung des Verhältnisses

5

$$v = \frac{\text{IL-6 Wert } (t_2)}{\text{IL-6 Wert } (t_1)}$$

10

(c) für den Fall, daß $v > 1$ ist erfolgt eine Behandlung mit TNF-Antagonisten.

15

20

25

30

35

40

45

Verwendung von TNF-Antagonisten als Arzneimittel zur Behandlung von septischen Erkrankungen

5 Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von TNF-Antagonisten bei der Behandlung von septischen Erkrankungen.

10 Es ist bekannt, daß der Begriff Tumor Nekrose Faktor (TNF) zwei zytotoxische Faktoren (TNF- α und TNF- β) umfaßt, die größtenteils von aktivierten Lymphozyten und Monozyten gebildet werden.

In der EP 260 610 werden beispielsweise anti-TNF-Antikörper beschrieben, die bei Krankheiten, die mit einer Erhöhung von TNF im Blut verbunden sind, wie septischer Schock, Transplantatabstossung, Allergien, Autoimmunkrankheiten, Schocklunge, Blutge- rinnungsstörungen oder entzündlichen Knochenerkrankungen zur Inaktivierung von TNF einsetzbar sein sollen.

20 In medizinischen Lehrbüchern werden septische Erkrankungen als klinischer Sammelbegriff für Zustände definiert, bei denen - ausgehend von einem Herd - Entzündungserreger, z.B. Bakterien in die Blutbahn gelangen, wodurch ein großes Spektrum subjektiver und 25 objektiver Krankheitsscheinungen ausgelöst wird. Weiterhin wird festgestellt, daß in Abhängigkeit vom Erregertyp, der Reaktionslage des Organismus, dem Primärherd und den wechselnden Organbe- teiligungen das Krankheitsbild sehr variieren kann (Sturm et al. "Grundbegriffe der Inneren Medizin", 13. Auflage, Seite 570, Gu- 30 stav Fischer Verlag, Stuttgart, 1984).

Für den komplexen pathophysiologischen Ablauf einer Sepsis wird die Beteiligung einer Reihe von Cytokinen diskutiert. Besonders TNF wird eine wichtige Rolle beim septischen Schock aufgrund 35 tierexperimenteller Daten zugeschrieben (Beutler et al., Science 229, 869-871, 1985).

Dies hat letztlich dazu geführt, daß klinische Studien zur Behandlung von Sepsispatienten mit anti-TNF-Antikörpern durchge- 40 führt wurden.

In einer vor kurzem veröffentlichten Mehrzentren-Phase II- Studie zur Behandlung von schwerer Sepsis mit einem murinen monoklonalen anti-TNF-Antikörper wurde allerdings gefunden, daß das Gesamtkol- 45 lektiv (80 Patienten) hinsichtlich Überlebensrate nicht von der Behandlung mit dem Antikörper profitierte. Lediglich die Pati- enten mit erhöhten zirkulierenden TNF-Konzentrationen schienen

von hochdosierter anti-TNF-Antikörper-Gabe hinsichtlich der Überlebenswahrscheinlichkeit zu profitieren (C.J.Fisher et al., Critical Care Medicine, Vol. 21, No.3, Seite 318-327). Weiterhin wird in dieser Studie auf eine Korrelation der Plasmawerte von TNF und IL-6 hingewiesen.

Die Rolle, die das Cytokin Interleukin-6 (IL-6) bei der Sepsis spielt, ist unklar und widersprüchlich. Bei einigen Sepsispatienten wurden erhöhte Serumspiegel an IL-6 gefunden (Hack et al., Blood 74, Nr.5, 1704-1710, 1989).

Waage beschreibt, daß die Konzentrationen der Cytokine IL-6 und IL-8 mit der Schwere des Schocks korrelieren; daß sie aber nicht, weder allein noch in Kombination mit TNF, die Entwicklung eines Schocksyndroms hinsichtlich Lethalität beeinflussen (Waage in "Tumor Necrosis Factors", ed. B.Beutler, Raven Press, New York, 1992, Seite 275-283).

Von einigen Wissenschaftlern wird IL-6 eine günstige Rolle beim septischen Schock zugeschrieben, da IL-6 in Form einer negativen Feedback-Kontrolle die LPS-induzierte TNF Produktion hemmt (Libert et al. in "Tumor Necrosis Factor: Molecular and Cellular Biology and Clinical Relevance", ed. W. Fiers, Karger, Basel, 1993, Seite 126-131).

WO 95/00291 lehrt TNF-Antagonisten als Medikamente zur Behandlung von Sepsis bei solchen Patienten, bei denen Interleukin-6 Serumwerte von 500 pg/ml und mehr auftreten.

Es zeigte sich jedoch in klinischen Studien, daß die in WO 95/00291 offenbare Behandlung nicht immer erfolgreich war.

Offenbar gibt es Fälle von Sepsis, die mit gutem Erfolg mit TNF-Antagonisten therapierbar sind, während in anderen Fällen eine Behandlung mit TNF-Antagonisten keinen Erfolg zeigt und sogar kontraindiziert ist.

Es bestand daher die Aufgabe, innerhalb der an Sepsis erkrankten Patienten diejenigen verlässlich und schnell zu identifizieren, die mit TNF-Antagonisten erfolgreich behandelbar sind.

Es wurde gefunden, daß die Behandlung von septischen Erkrankungen bei solchen Patienten erfolgreich ist, die folgende Merkmale aufweisen:

Der Interleukin-6 Serumspiegel ist ansteigend, d.h. innerhalb eines Meßintervalls, das mindestens dreißig Minuten beträgt, ist der später gemessene Wert höher als der zuerst gemessene Wert.

5 Patienten, die an einer Sepsis erkrankt sind und dieses Kriterium erfüllen, sind für eine Behandlung mit TNF-Antagonisten gut geeignet.

Bevorzugt wird die Behandlung bei solchen Patienten durchgeführt, 10 bei denen der Interleukin-6 Serumspiegel im Meßintervall mindestens 500 pg/ml beträgt. Er kann jedoch aber auch deutlich über diesem Wert liegen und bis zu einer Größenordnung von einigen mg/ml betragen.

15 Um festzustellen, ob der Interleukin-6 Serumspiegel (IL-6) ansteigend ist, müssen mindestens zwei IL-6 Messungen durchgeführt werden.

Der zweite, spätere Meßwert soll in einem Zeitraum von 30 Minuten 20 bis 48 Stunden nach dem ersten IL-6 Meßwert erhoben werden (Meßintervall).

Bevorzugt beträgt das Meßintervall 2 - 24, insbesondere 4 - 10 Stunden.

25 Die zu behandelnden Patienten befinden sich in der Regel unter intensivmedizinischer Behandlung, die ein Einhalten von strikten Meßintervallgrenzen manchmal nicht erlaubt.

30 Das Ausmaß des IL-6-Serumspiegelanstiegs zwischen den beiden Messungen ist für die erfindungsgemäße Verwendung nicht so entscheidend.

Im Falle eines nicht-ansteigenden oder sogar abfallenden IL-6-Serumspiegels im Meßintervall ist eine Behandlung mit TNF-Antagonisten nicht zu empfehlen.

Die Serumkonzentrationen an IL-6 lassen sich mit üblichen Nachweisverfahren wie RIA oder ELISA bestimmen. Ein gut geeignetes 40 Nachweissystem ist beispielsweise das "IL-6-EASIA" der Fa. Medgenix.

Die Konzentration an IL-6 kann auch über einen Aktivitätstest, bei dem beispielsweise C-reaktives Protein getestet wird, 45 bestimmt werden.

Da unterschiedliche Meßverfahren oder Testsysteme bei der gleichen Messung manchmal voneinander abweichende Ergebnisse liefern, empfiehlt es sich, entweder das gleiche Meßverfahren bzw. Testsystem für die Bestimmung der IL-6 Werte einzusetzen oder - bei Verwendung unterschiedlicher Systeme - diese gegeneinander zu eichen.

Als TNF-Antagonisten geeignet sind anti-TNF-Antikörper, TNF-Rezeptoren und lösliche Fragmente davon, TNF-Bindeproteine oder solche TNF-Derivate, die noch TNF-Rezeptorbindung besitzen, aber keine TNF-Aktivität mehr aufweisen. Solche TNF-Antagonisten sind dadurch gekennzeichnet, daß sie bereits gebildetes TNF abfangen und nicht an den TNF-Rezeptor gelangen lassen oder daß sie mit TNF um den Rezeptor konkurrieren.

Geeignet für die erfindungsgemäße Verwendung sind aber auch TNF-Antagonisten, die die Bildung oder Freisetzung von TNF verhindern. Solche Substanzen inhibieren beispielsweise die Genexpression von TNF oder die Freisetzung von TNF aus Vorläuferformen. Geeignete TNF-Antagonisten sind beispielsweise Inhibitoren der TNF-Convertase.

TNF-antagonistischen Aktivitäten sind beispielsweise von Xanthinderivaten, Glucocorticoiden, Prostaglandin E 2, Thalidomid, Interleukin-4, Interleukin-10, Granulozyten Stimulating Factor (G-CSF), Cyclosporin, α -Antitrypsin beschrieben. Daher sind auch solche Verbindungen als TNF-Antagonisten geeignet.

Die für die erfindungsgemäße Verwendung geeigneten TNF-Antagonisten sind beispielsweise von Mariott et al. DDT, Vol. 2, No. 7, July 1997 und in der dort zitierten Literatur beschrieben.

Besonders bevorzugt für die erfindungsgemäße Verwendung sind anti-TNF-Antikörper und deren Fragmente.

Die zur erfindungsgemäßen Verwendung geeigneten anti-TNF-Antikörper sind bekannt (EP 260 610, EP 351 789, EP 218 868). Es können sowohl polyklonale als auch monoklonale Antikörper verwendet werden. Weiterhin sind auch TNF-bindende Antikörperfragmente wie Fab- oder $F(ab')_2$ -Fragmente oder single-chain-Fv-Fragmente geeignet.

Ferner sind auch humanisierte oder humane anti-TNF-Antikörper oder deren TNF-bindende Fragmente gut geeignet, da diese Moleküle in menschlichen Patienten keine anti-Maus-Antigenizität verursachen sollten.

Es können auch Gemische von verschiedenen anti-TNF-Antikörpern oder von anti-TNF-Antikörpern und TNF-Rezeptor-Fragmenten als Wirkstoff verwendet werden.

5 Zur vorliegenden Erfindung gehören pharmazeutische Zubereitungen, die neben nicht-toxischen, inerten pharmazeutisch geeigneten Trägerstoffen die anti-TNF-Antikörper enthalten, sowie Verfahren zur Herstellung dieser Zubereitungen.

10 Die Formulierung der anti-TNF-Antikörper geschieht in für biotechnisch hergestellte Wirkstoffe üblicher Weise, in der Regel als Flüssigformulierung oder Lyophilisat (siehe z.B. Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, Bd. 2, 5. Auflage, 1991, S. 720, ISBN 3-540-52459-2). Die Herstellung der oben aufgeführten

15 pharmazeutischen Zubereitungen erfolgt in üblicher Weise nach bekannten Methoden, z.B. durch Mischen des oder der Wirkstoffe mit dem oder mit den Trägerstoffen.

Im allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, den oder die
20 für die erfindungsgemäße Verwendung geeigneten Wirkstoffe in Ge-
samtmengen von etwa 0,1 bis etwa 100, vorzugsweise 0,1 bis 10
mg/kg Körpergewicht je 24 Stunden, ggf. in Form mehrerer Einzel-
gaben oder als Dauerinfusion und ggf. über eine Therapiedauer von
mehreren Tagen hinweg zur Erzielung der gewünschten Ergebnisse zu
25 verabreichen. Die Applikation kann als intravenöse Kurzinfusion
der Einzelgaben oder als kontinuierliche Langzeitinfusion der
Tagesdosis über 24 Stunden erfolgen. Eine Einzelgabe enthält den
oder die Wirkstoffe vorzugsweise in Mengen von etwa 0,1 bis etwa
10 mg/kg Körpergewicht. Es kann jedoch erforderlich sein, von den
30 genannten Dosierungen abzuweichen und zwar in Abhängigkeit von
Alter und Größe des zu behandelnden Patienten sowie der Art und
der Schwere der zugrundeliegenden Erkrankung, der Art der Zube-
reitung und der Applikation des Arzneimittels sowie dem Zeitraum
bzw. Intervall, innerhalb welchem die Verabreichung erfolgt.
35 Die Erfindung ist in dem folgenden Beispiel weiter veranschau-
licht.

Beispiel

40 Behandlung von Sepsispatienten mit einem murinen anti-TNF-Antikörperfragment ($F(ab')_2$), genannt MAK 195F (INN: AFELIMOMAB).

In einer multizentrischen klinischen Studie wurden insgesamt 251 Patienten mit schwerer Sepsis analysiert, die entweder mit einem anti-TNF-Antikörperfragment (Afelimomab) oder als Kontrollpatienten behandelt wurden.

6

Von den 251 Patienten hatten 47 einen ansteigenden, 178 einen absteigenden IL-6 Serumspiegel.

Die Figur zeigt, daß in der Gruppe mit ansteigendem IL-6 Wert 5 durch die Behandlung eine Senkung der Mortalität erreichbar ist (55,6 % Mortalität gegenüber 69 % bei Kontrolle).

Bei der Gruppe, die einen abfallenden IL-6 Serumspiegel aufwies, ist durch die Behandlung mit MAK 195 F kein Erfolg sichtbar; es 10 zeigt sich im Gegenteil sogar ein negativer Einfluß durch die Behandlung (Mortalität beträgt 54,7 % gegenüber 50,6 % bei der Kontroll-Gruppe).

Die Behandlungsgruppe erhielt zusätzlich zur Standardtherapie der 15 Sepsis das Prüfpräparat Afelimumab über einen Zeitraum von 3 Tagen als insgesamt neunmalige Kurzinfusion über 15 Minuten in jew. achtstündigen Abständen in der Einzeldosis von jeweils 1 mg/kg Körpergewicht. Die Kontrollgruppe erhielt neben der Standardtherapie der Sepsis zusätzlich ein pharmakologisch unwirksames 20 Scheinpräparat (Placebo) in gleichem Applikationsschema.

Das Ergebnis dieser klinischen Studie belegt deutlich, daß die Behandlung von schwerer Sepsis mit anti-TNF-Antikörpern besonders erfolgreich verläuft, wenn solche Sepsispatienten behandelt werden, 25 die einen ansteigenden IL-6 Serumspiegel aufweisen. Patienten, die einen abfallenden IL-6-Serumspiegel aufweisen, sollten demzufolge nicht mit TNF-Antagonisten behandelt werden.

30

35

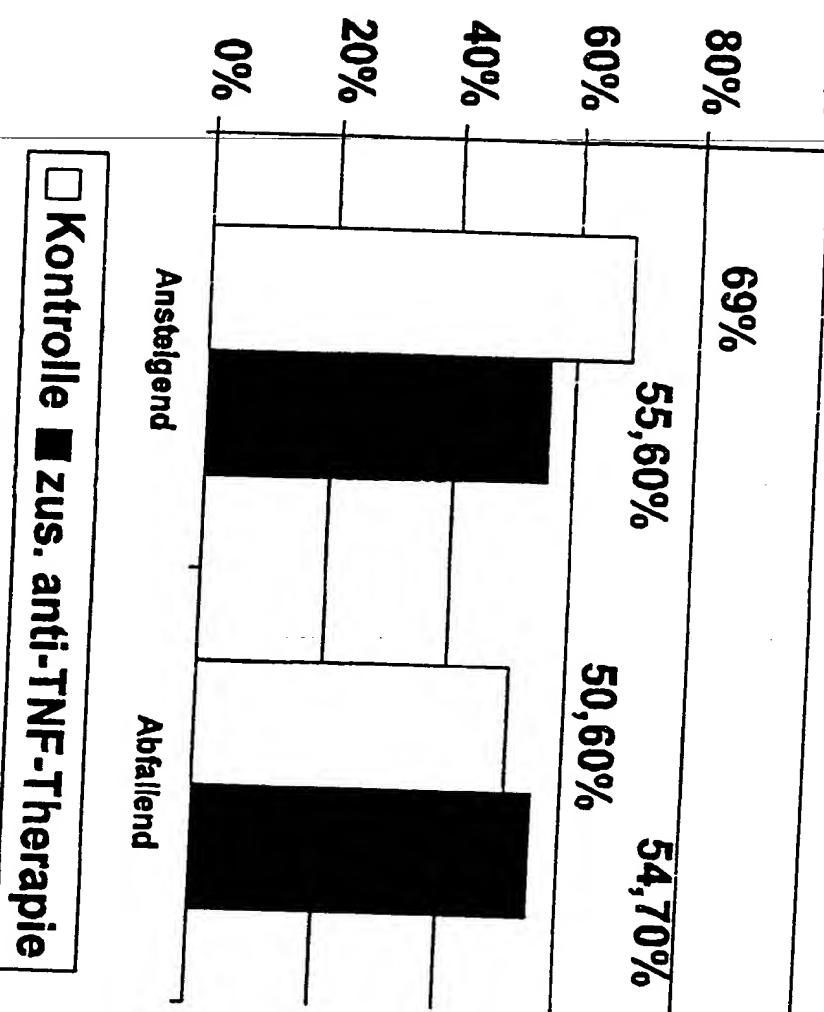
40

45

16.10.96

Sepsis

Mortalitätsrate (28 Tage) bei an- und absteigendem
IL-6 Spiegel mit/ohne zusätzliche anti-TNF-Therapie



Verwendung von TNF-Antagonisten als Arzneimittel zur Behandlung von septischen Erkrankungen

5 Zusammenfassung

Verwendung von TNF-Antagonisten zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von solchen septischen Erkrankungen, die durch einen ansteigenden Verlauf des Interleukin-6 Serumspiegels in 10 einem Meßintervall von mindestens dreißig Minuten gekennzeichnet sind.

15

20

25

30

35

40

45

